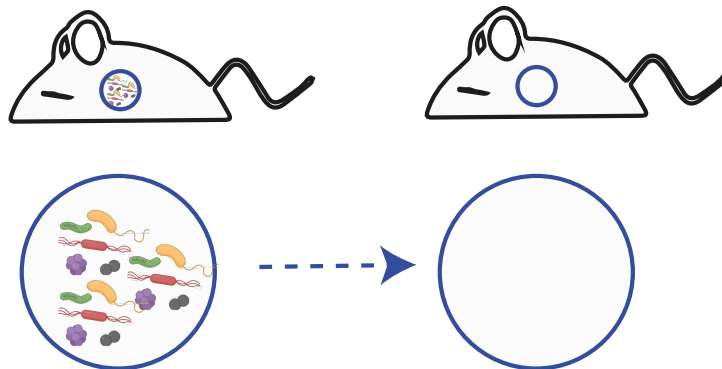


Germline-free животные: сложности и необходимость получения для российской науки

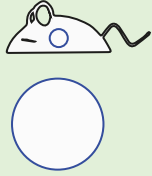


Литвинова Е. А.

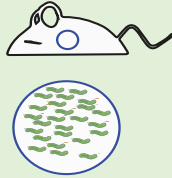
***GLP-PLANET IV совместно с RUS-LASA,
Санкт-Петербург 2023***

ТИПЫ ЖИВОТНЫХ С МИКРОБИОТОЙ КИШЕЧНИКА

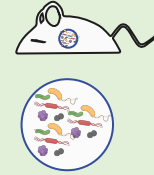
ГНОТОБИОНЫ



GERM-FREE



МОНОАССОЦИИРОВАННЫЕ



БАКТЕРИАЛЬНЫЕ СООБЩЕСТВА
(Altered Schaedler's Flora)

БЕЗ СПЕЦИФИЧЕСКИХ ВИДОВЫХ ПАТОГЕНОВ

КОНВЕНЦИОНАЛЬНЫЕ

ДИКИЕ ЖИВОТНЫЕ С ЕСТЕСТВЕННОЙ МИКРОБИОТОЙ

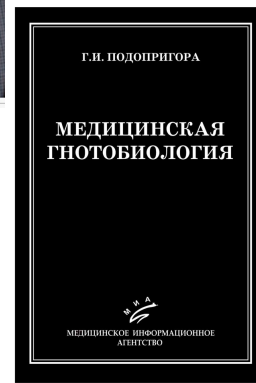
ИСТОРИЯ СОЗДАНИЯ GERM-FREE ЖИВОТНЫХ

1885	Идея	Л. Пастер
1895	Морская свинка	Берлинский университет NUTTALL, THIERFELDER
1946	Крысы	GUSTAFSSON B. Germ-free rearing of rats. Acta Anat (Basel).
1959	Грызуны	PLEASANTS JR. Rearing germfree cesarean-born rats, mice, and rabbits through weaning. Ann N Y Acad Sci.
1964	Подселение микробиоты человека	GIBBONS RJ, SOCRANSKY SS, KAPSIMALIS B. Establishment of human indigenous bacteria in germ-free mice. J Bacteriol.
1995-2000	30 публикаций в год	Сравнение GF и обычных Модели germ-free на разных видах животных
2001-2010	50 публикаций в год	Роль микробиоты в пищеварении, метаболических расстройствах, иммунитете и эндокринной системы
2011-2015	100 публикаций в год	Роль микробиоты в регуляции и физиологии животных, понимание механизмов развития заболеваний
2016-2018	200 публикаций в год	Роль микробиоты в ВЗК, нейровоспалении и нейро-дегенеративных заболеваний
2019-2022	260 публикаций в год	Изучение роли отдельных штаммов микроорганизмов на функционирование организма

ИСТОРИЯ РАБОТЫ С GERM-FREE ЖИВОТНЫМИ В РФ

1950-1960

Методические
подходы создания
гнотобионтов в СССР



Подопригора Геннадий Игнатьевич
С 1965 — работал в Лаборатории
экспериментально-биологических
моделей АМН СССР руководителем
группы гнотобиологии

(с 1952-1965 заведующий
кафедрой оперативной хирургии в
НГМУ)



1972 год



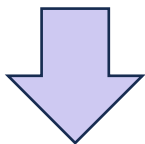
Лаборатория гнотобиологии
в РНИМУ им. Пирогова

GERM-FREE ЖИВОТНЫМИ В РФ СЕЙЧАС

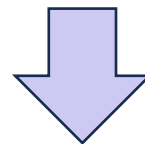
ПОЛУЧЕНИЕ МЫШЕЙ

КУПИТЬ ГОТОВЫХ ЗА
РУБЕЖОМ

САМОСТОЯТЕЛЬНО
СДЕЛАТЬ



- СЛОЖНОСТИ ПОСТАВКИ, ТОЛЬКО КИТАЙ
- ДОРОГО
- РИСК ПОЛУЧИТЬ МЕРТВЫХ
- НЕТ НУЖНЫХ ЛИНИЙ (ТРАНСГЕННЫХ)
- НЕЛЬЗЯ КУПИТЬ ДЛЯ РАЗВЕДЕНИЯ, ТОЛЬКО ЭКСПЕРИМЕНТ



- НЕТ ОПЫТА
- НЕТ НУЖНЫХ РАСХОДНЫХ МАТЕРИАЛОВ
- НЕ ПОНЯТНА ПОТРЕБНОСТЬ РОССИЙСКИХ УЧЕНЫХ В ТАКИХ ЖИВОТНЫХ



- СОБСТВЕННЫЕ ЖИВОТНЫЕ В РФ
- ЛЮБАЯ ТРАНСГЕННАЯ ЛИНИЯ, ЛЮБАЯ МОДЕЛЬ
- ПОД ЗАДАЧИ РОССИЙСКИХ УЧЕНЫХ И ФАРМИСПЫТАНИЯ

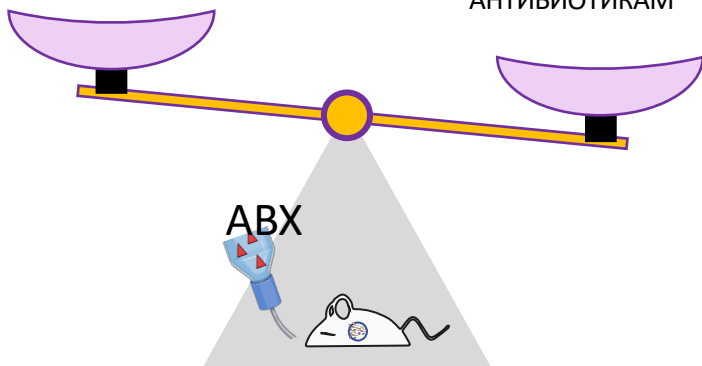
СОБСТВЕННОЕ ПОЛУЧЕНИЕ МЫШЕЙ

ПРЕИМУЩЕСТВА

- НЕДОРОГО
- НЕТ СПЕЦИАЛЬНОГО ОБОРУДОВАНИЯ
- ПОДХОДИТ ДЛЯ ЛЮБОГО ГЕНОТИПА

НЕДОСТАТКИ

- ОСТАЮТСЯ МИКРООРГАНИЗМЫ
- ВЛИЯНИЕ НА ЭУКОРИАТИЧЕСКИЕ КЛЕТКИ
- РЕЗИСТЕНТНЫЕ ШТАММЫ К АНТИБИОТИКАМ



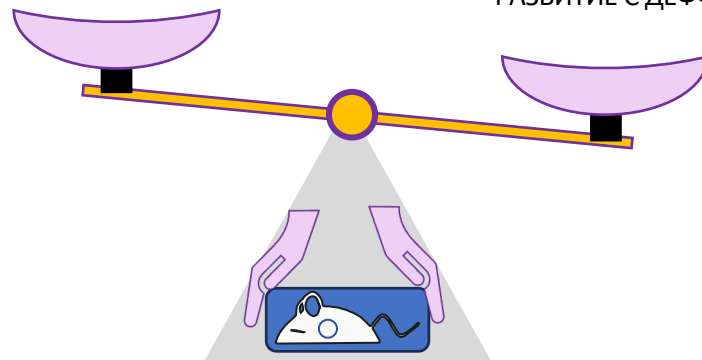
ВОЗДЕЙСТВИЕ АНТИБИОТИКАМИ

ПРЕИМУЩЕСТВА

- СВОБОДНЫ ОТ ВСЕХ МИКРООРГАНИЗМОВ
- ПОЗВОЛЯЕТ ПОДСЕЛИТЬ ТОЧНО ЛЮБОЙ МИКРООРГАНИЗМ

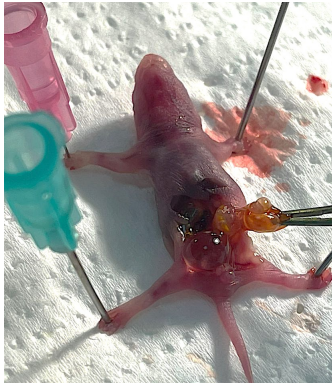
НЕДОСТАТКИ

- ДОРОГО
- СПЕЦИАЛЬНОЕ ОБОРУДОВАНИЕ
- НОВЫЕ ГЕНОТИПЫ НУЖНО РЕДЕРИВИРОВАТЬ
- РАЗВИТИЕ С ДЕФЕКТАМИ

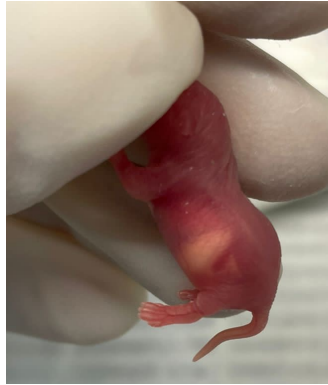


ИСКУССТВЕННОЕ ВЫКАРМЛИВАНИЕ

СОБСТВЕННОЕ ПОЛУЧЕНИЕ МЫШЕЙ



Вздутие кишечника из-за нехватки молока



Решение:

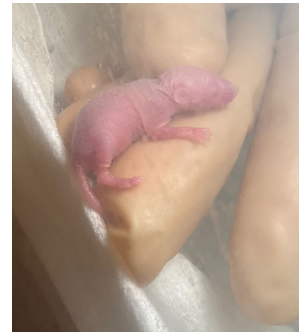
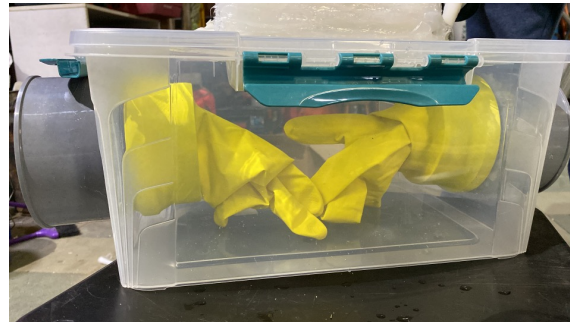
- срок первого кормления не ранее чем через 3 часа,
- правильной формы силиконовая накладка,
- за один прием не менее 50 мкл
- период кормления каждые 3 часа.



- отработана гистеректомия для получения стерильных мышат с высоким процентом выживания (до 90%) у самок различных генотипов: C57BL/6, BALB/c, Muc2+/-, CD-1.



Оптимальные условия содержания благодаря переносному перчаточному боксу с HEPA-фильтрацией воздуха внутри и постоянным контролем температуры и влажности.



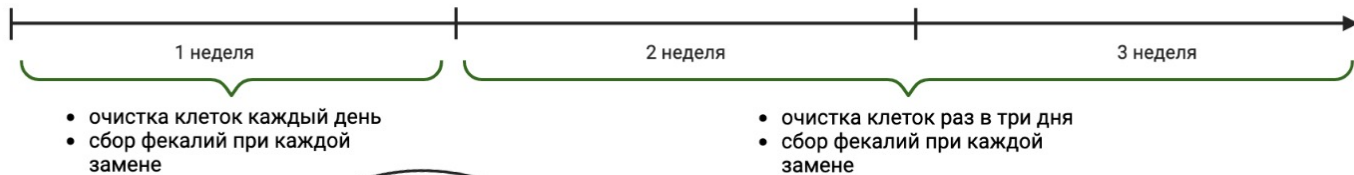
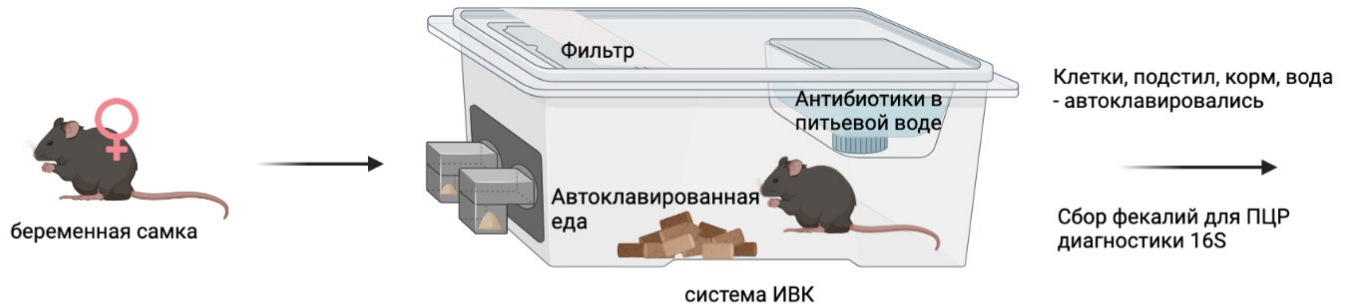
Искусственно выкормленный мышонок CD-1 в возрасте 7 дней

РАЗВИТИЕ ТОЛЬКО ДО 10 ДНЕЙ

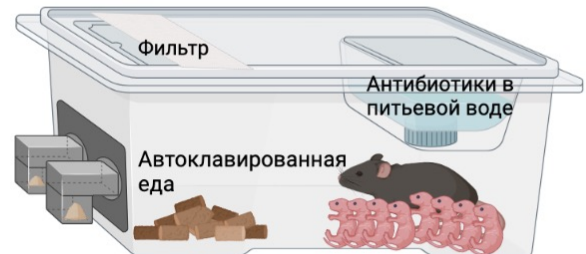
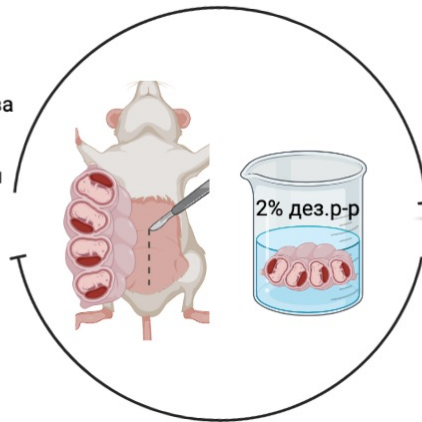
НЕТ СМЕСИ БЕЗ ПРОБИОТИКОВ ДЛЯ ВЫКАРМИВАНИЯ, В КОТОРОЙ ПРАВИЛЬНО ПОДОБРАН БАЛАНС БЖУ И ВИТАМИНОВ МЫШЕЙ

ТОЛЬКО МОЛОКО МЫШИ

СОБСТВЕННОЕ ПОЛУЧЕНИЕ МЫШЕЙ



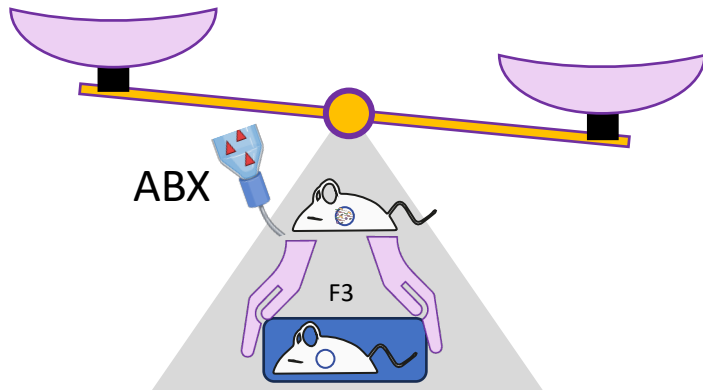
после появления потомства самке подкладывали детенышей, полученных методом кесарева-сечения



СОБСТВЕННОЕ ПОЛУЧЕНИЕ МЫШЕЙ

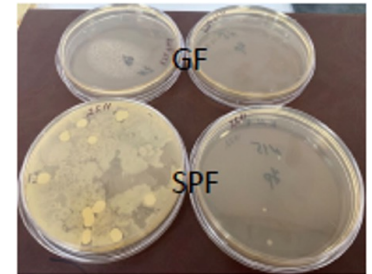
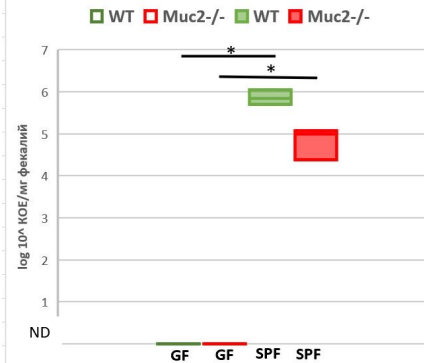
ОСОБЕННОСТИ

- ДОСТУПНО, НО ТРУДОЗАТРАТНО
- СОБСТВЕННЫЕ ЖИВОТНЫЕ
- СЛЕДИТЬ ЗА СТЕРИЛЬНОСТЬЮ КОРМА (МОГУТ ВЫЖИВАТЬ СПОРОВЫЕ)
- НЕТ ДОСТУПНОГО ОТЕЧЕСТВЕННОГО ОБОРУДОВАНИЯ
- ВХОДНЫЕ ЖИВОТНЫЕ ДОЛЖНЫ БЫТЬ СПФ
- МОЖНО ПОЛУЧИТЬ ЛЮБОЙ ГЕНОТИП
- КОНТРОЛЬ ЗА СТЕРИЛЬНОСТЬЮ



ВОЗДЕЙСТВИЕ АНТИБИОТИКАМИ
+ СТЕРИЛЬНОЕ СОДЕРЖАНИЕ НЕСКОЛЬКИХ
ПОКОЛЕНИЙ= GERM-FREE

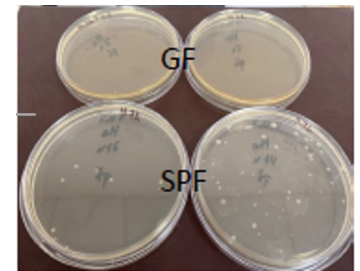
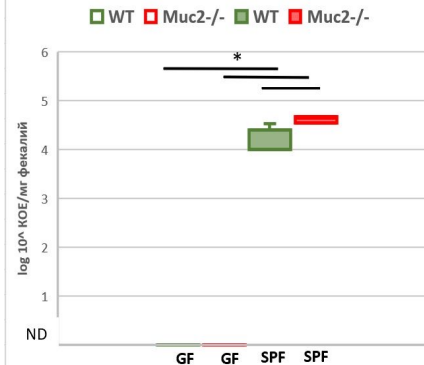
А. АЭРОБНЫЕ БАКТЕРИИ



Muc2^{+/+}

Muc2^{-/-}

Б. АНАЭРОБНЫЕ БАКТЕРИИ



Muc2^{+/+}

Muc2^{-/-}

РАБОТА С GERM-FREE МЫШАМИ

ЕСТЬ ЖЕЛАНИЕ И НЕОБХОДИМОСТЬ РАБОТЫ С ГНОТОБИОНТАМИ

ЕСТЬ ЦЕНТРЫ в РФ ДЛЯ РАБОТЫ С ГНОТОБИОНТАМИ

НЕТ ВОЗМОЖНОСТИ ПЕРЕВОЗКИ GERM-FREE МЫШЕЙ ПО РФ

НЕТ ОТЕЧЕСТВЕННОГО ОБОРУДОВАНИЯ

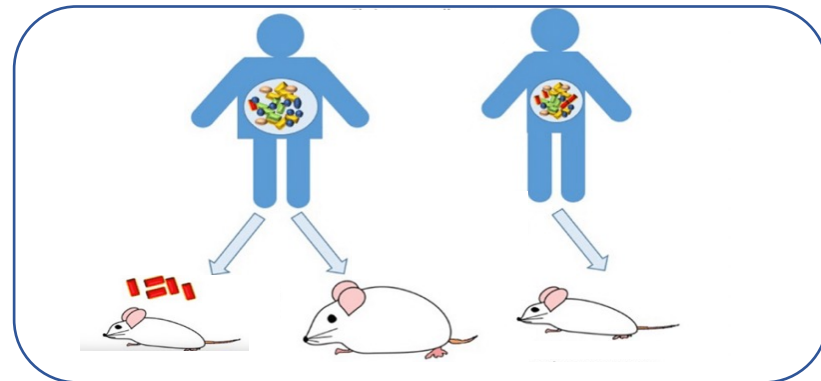
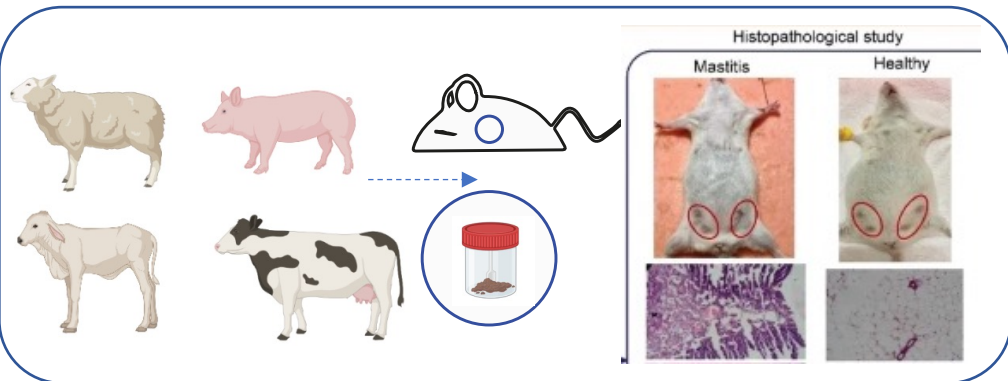
НЕТ ОТЕЧЕСТВЕННОГО СТЕРИЛЬНОГО КОРМА

НЕТ ОТЕЧЕСТВЕННОЙ ПОДКОРМКИ ВИТАМИНОВ ДЛЯ GERM-FREE

МОТИВАЦИЯ РАБОТАТЬ С GERM-FREE МЫШАМИ

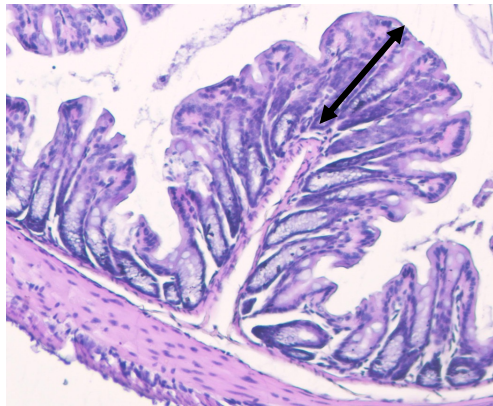
ФАРМАКОЛОГИЯ МЕДИЦИНА ФУНДАМЕНТАЛЬНАЯ НАУКА ВЕТЕРИНАРИЯ

- Модели заболеваний с микробиомом человека и животных
- Изучение роли генов без участия микробиоты (трансгенные Germ-free)
- Поиск новых терапевтических препаратов на основе микроорганизмов и их метаболитов
- Понимание роли патогенной микробиоты в развитии заболеваний человека и животных
- Персонализированный подход в ветеринарии и медицине
- Понимание механизма транслокации инфекции в организме
- Поиск критических микроорганизмов для заболеваний не инфекционной природы и способов их элиминации
- Получение стандартизованных СПФ животных после подселения нужного коктейля микроорганизмов

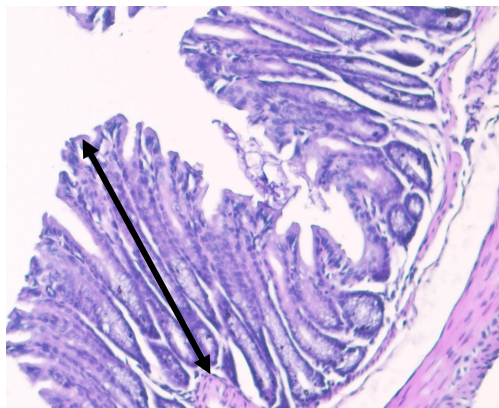


НАШИ ИССЛЕДОВАНИЯ С GERM-FREE МЫШАМИ

WT



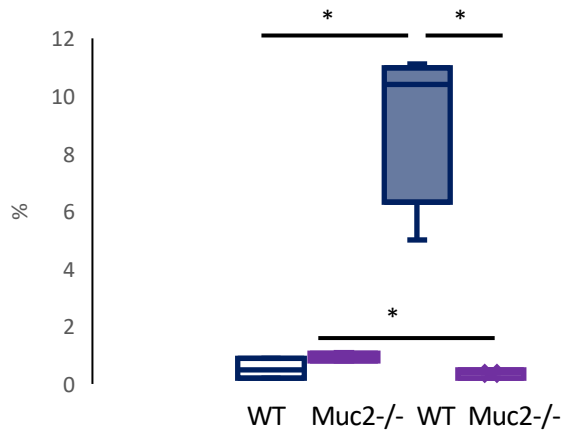
Muc2^{-/-}



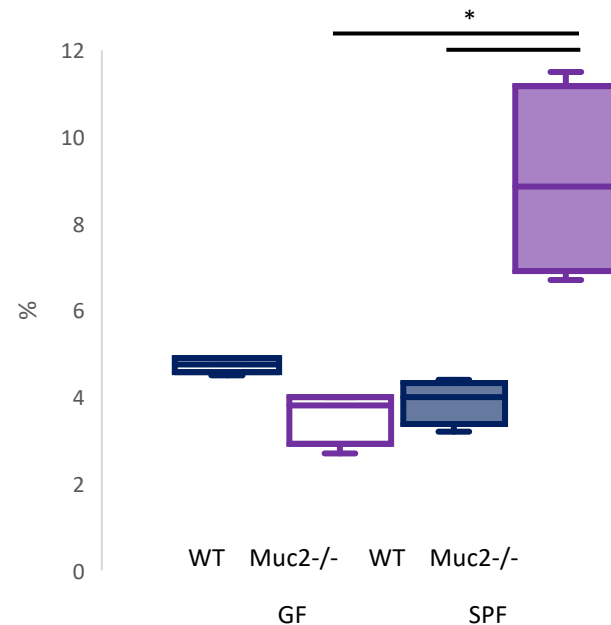
M1 макрофаги iNOS



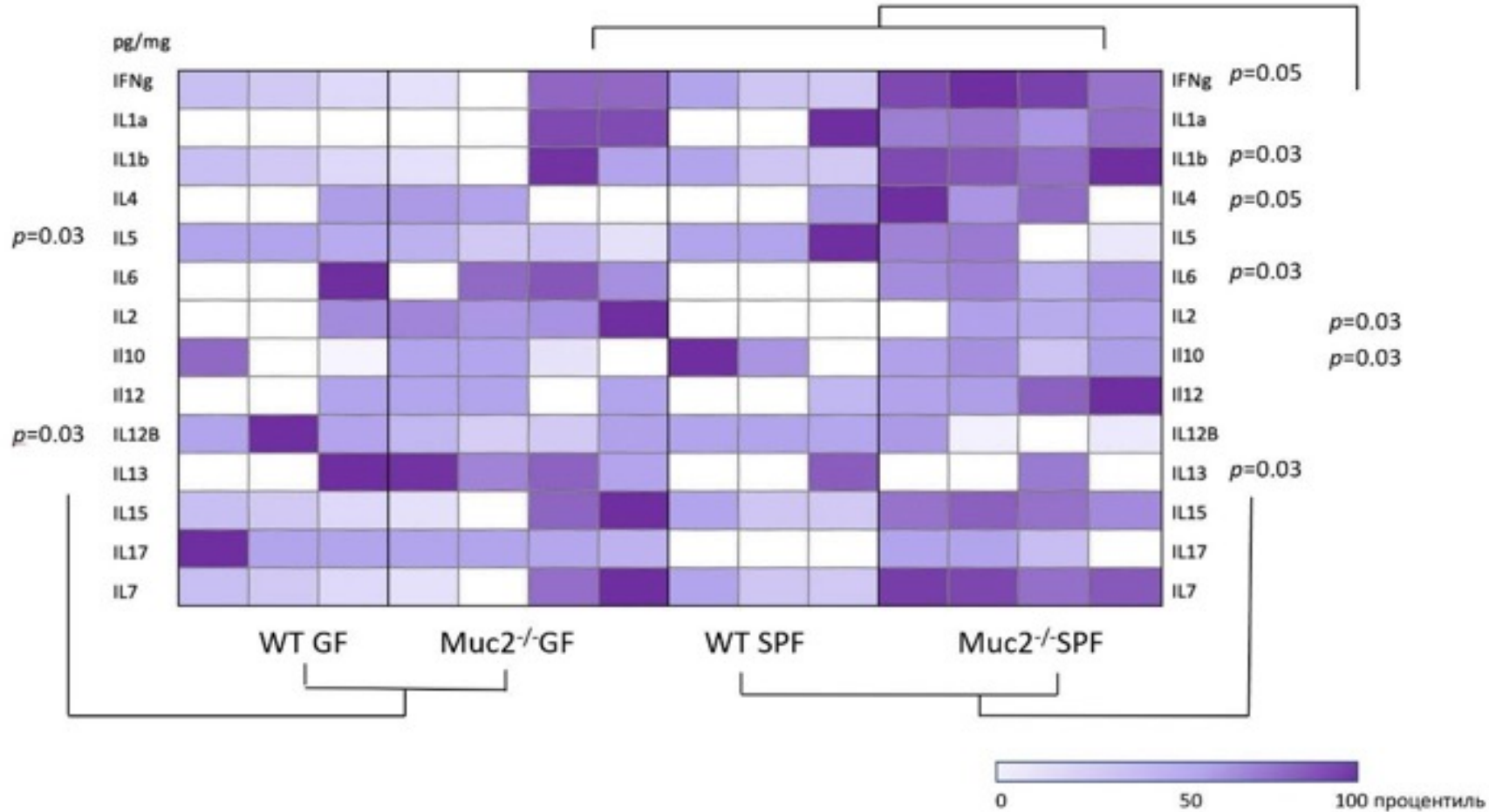
M2 макрофаги Arg2



Колитогенные спленциты
CD4CD25⁻CD45Rb^{high}



НАШИ ИССЛЕДОВАНИЯ С GERM-FREE МЫШАМИ

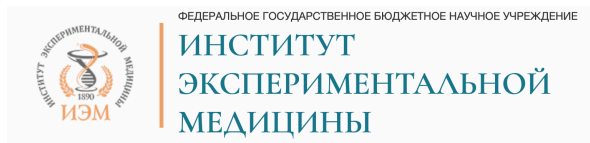


Благодарность:



Институт нейронаук и
медицины

Макушева Ю.С.
Гончарова Е.П.
Сайеди А.
Аржанова Е.Л.



Ситкину С.И.
Вахитову Т.Я.
Кононовой С.



Бец В.Д.
Блиновой Е.А.
Корель А.В.
Самохин А.Г.
Сайеди А.



Феофановой Н.
Барковской М.



Российский
научный фонд

№ 20-64-47020